



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 35/74, 39/106 // (A61K 39/106, 31:57, 38:39, 39:108) (A61K 35/74, 38:39)</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 97/30716 (43) Date de publication internationale: 28 août 1997 (28.08.97)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/00334 (22) Date de dépôt international: 25 février 1997 (25.02.97) (30) Données relatives à la priorité: 96/02445 26 février 1996 (26.02.96) FR (71)(72) Déposant et inventeur: TOROSSIAN, Fernand, Narbey [FR/FR]; 10, rue Noël Ballay, F-31400 Toulouse (FR). (74) Mandataire: MORELLE, Guy; Cabinet Morelle & Bardou, S.C., Boîte postale 4127, F-31030 Toulouse Cédex 4 (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AU, CA, CN, JP, MX, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>
<p>(54) Title: ANTI-HELICOBACTER VACCINE COMPLEX (54) Titre: COMPLEXE VACCINAL ANTI-HELICOBACTER (57) Abstract A therapeutical vaccine complex having activity specific for <i>Helicobacter</i> bacteria as well as non-specific immunomodulation activity for regulating the natural defences of the body, is disclosed. The drug is also useful for preventing relapses, particularly in cases of resistance to conventional treatment. The drug essentially consists of RNA, selective membrane fractions of microbial germs, particular amino acid sequences, sodium chloride and a steroidal anti-inflammatory in predetermined proportions enabling simultaneous delivery of antibiotics and frenosecretories. Said drug is particularly suitable for treating digestive tract diseases caused by <i>Helicobacter</i> (antral gastritis, duodenal ulcers, gastric ulcers, oesophagitis, hepatitis) and preventing stomach cancer and degenerative infectious MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma, as well as coronary diseases directly or indirectly dependent on <i>Helicobacter</i> infections. (57) Abrégé Complexe vaccinal thérapeutique spécifique des bactéries <i>Helicobacter</i> et non spécifique agissant par immunomodulation permettant la régulation des défenses naturelles de l'organisme. Ce médicament permet également d'éviter les récides, notamment dans les cas de résistances aux traitements conventionnels. Il est composé essentiellement d'ARN, de fractions sélectives membranaires de germes microbiens, de séquences particulières d'acides aminés, de chlorure de sodium et d'anti-inflammatoire stéroïdien, dans des proportions déterminées, permettant l'administration simultanée d'antibiotiques et d'antisécrétoires. Ce médicament est particulièrement destiné au traitement des maladies du tractus digestif par <i>Helicobacter</i> (gastrites antrales, ulcère duodénal, ulcère gastrique, oesophagite, hépatite) et à la prévention du cancer gastrique et du lymphome de Malt ("mucous associated lymphoid tissue") d'origine infectieuse dégénérative, ainsi que des affections coronariennes directement ou indirectement dépendantes d'infections par <i>Helicobacter</i>.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 35/74, 39/106 // (A61K 39/106, 31:57, 38:39, 39:108) (A61K 35/74, 38:39)</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 97/30716 (43) Date de publication internationale: 28 août 1997 (28.08.97)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/00334 (22) Date de dépôt international: 25 février 1997 (25.02.97) (30) Données relatives à la priorité: 96/02445 26 février 1996 (26.02.96) ✓ FR (71)(72) Déposant et inventeur: TOROSSIAN, Fernand, Narbey [FR/FR]; 10, rue Noël Ballay, F-31400 Toulouse (FR). (74) Mandataire: MORELLE, Guy; Cabinet Morelle & Bardou, S.C., Boîte postale 4127, F-31030 Toulouse Cédex 4 (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AU, CA, CN, JP, MX, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>
<p>(54) Title: IMMUNOMODULATORY COMPLEX AND USE THEREOF IN HELICOBACTER DISEASES (54) Titre: COMPLEXE IMMUNOMODULATEUR ET SON UTILISATION DANS LES AFFECTIONS PAR HELICOBACTER (57) Abstract <p>A therapeutical vaccine complex having activity specific for <i>Helicobacter</i> bacteria as well as non-specific immunomodulation activity for regulating the natural defences of the body, is disclosed. The drug is also useful for preventing relapses, particularly in cases of resistance to conventional treatment. The drug essentially consists of RNA, selective membrane fractions of microbial germs, particular amino acid sequences, sodium chloride and a steroidal anti-inflammatory in predetermined proportions enabling simultaneous delivery of antibiotics and frenosecretories. Said drug is particularly suitable for treating digestive tract diseases caused by <i>Helicobacter</i> (antral gastritis, duodenal ulcers, gastric ulcers, oesophagitis, hepatitis) and preventing stomach cancer and degenerative infectious MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma, as well as coronary diseases directly or indirectly dependent on <i>Helicobacter</i> infections.</p><p>(57) Abrégé <p>Complexe vaccinal thérapeutique spécifique des bactéries <i>Helicobacter</i> et non spécifique agissant par immunomodulation permettant la régulation des défenses naturelles de l'organisme. Ce médicament permet également d'éviter les récides, notamment dans les cas de résistances aux traitements conventionnels. Il est composé essentiellement d'ARN, de fractions sélectives membranaires de germes microbiens, de séquences particulières d'acides aminés, de chlorure de sodium et d'anti-inflammatoire stéroïdien, dans des proportions déterminées, permettant l'administration simultanée d'antibiotiques et d'antisécroïres. Ce médicament est particulièrement destiné au traitement des maladies du tractus digestif par <i>Helicobacter</i> (gastrites antrales, ulcère duodénal, ulcère gastrique, oesophagite, hépatite) et à la prévention du cancer gastrique et du lymphome de Malt ("mucous associated lymphoid tissue") d'origine infectieuse dégénérative, ainsi que des affections coronariennes directement ou indirectement dépendantes d'infections par <i>Helicobacter</i>.</p></p></p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

COMPLEXE IMMUNOMODULATEUR ET SON UTILISATION DANS LES AFFECTIONS PAR
HELICOBACTER

05

La présente invention concerne un complexe vaccinal thérapeutique et préventif anti-bactérien, qui possède un pouvoir vaccinant lié à la présence d'antigènes spécifiques contre l'*Helicobacter pylori* (antérieurement appelé *Campylobacter pylori*) l'*Helicobacter hepaticus*, l'*Helicobacter corona-*
10 *ri*, et non spécifiques assurant une immunomodulation.

[MARSHALL BJ, WARREN Jr.. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration *Lancet* 1984; i:1311-4)]

15 [MÉGRAUD F. *Helicobacter pylori*, chef de file des bactéries du mucus. *La lettre de l'infectiologue* 1993; 8 (suppl. 4): 151-9].

Il est bien connu, en bactériologie, que les antigènes de surface des parois, des membranes ou des capsules (combinés ou libérés sous forme soluble dans le milieu de culture) sont de nature glycoprotéique, polypepti-
20 dique ou polysaccharidique.

Des vaccins associant à l'acide ribonucléique d'origine ribosomale (ARN) des facteurs associatifs, telles que des substances membranaires protéoglycaniques ou polysaccharidiques, extraites de germes pathogènes, sont utilisables dans l'élaboration des vaccins acellulaires (cf. *Inf. and*
25 *Immunity*, 1, 574-82, 1970 et PCT WO 94/22462).

Ces vaccins utilisent des antigènes spécifiques correspondant à des affections microbiennes spécifiquement déterminées.

Or , le pouvoir antigénique est essentiellement lié au niveau de l'ARN (des ribosomes en particulier) des cellules microbiennes, entre autres. Les Cellules Immunologiquement Compétentes (CIC) utilisent directement ces ARN comme transporteurs actifs.

05 Pour élaborer le complexe de l'invention, avec l'antigène sérotype bactérien d'*Helicobacter*, nous avons couplé, grâce à des liaisons de préférence covalentes, l'ARN d'origine ribosomale, de préférence, à une séquence d'acides aminés de nature glycoprotidique, présente de préférence dans le collagène de type III. Chez l'homme, le collagène représente approximative-
10 ment le tiers des protéines de l'organisme. Le type III a été choisi pour sa séquence d'acides aminés et sa présence dans le derme, la paroi vasculaire et les muqueuses épithéliales digestives.

 Dans notre complexe, nous utilisons comme stabilisant des fractions membranaires cellulaires issues des mêmes germes que ceux qui ont servi
15 à l'élaboration de l'ARN ribosomal. Ces fractions membranaires contiennent la totalité des substances peptidoglycaniques et sont connues en outre comme adjuvants d'immunité.

 Il est, en plus d'*Helicobacter pylori*, *hepaticus*, et *coronari*, utile d'avoir des fractions membranaires - glucopolysacchariques ou protéogly-
20 canes - issues de différents germes microbiens qui ont servi à fournir l'ARN par extraction de leurs ribosomes, germes connus pour leur immunogénèse (recrutement de macrophages, activation de lymphocytes T, potentialisation de la synthèse des immunoglobulines, IgA sécrétoires notamment (11 S), augmentation de la phagocytose et stimulation des cel-
25 lules T dépendantes...).

 Ceci a été ainsi conçu car, dans le cas précis des pathogénèses induites par *Helicobacter pylori*, *hepaticus* ou *helmannii*, *coronari*, l'orga-

nisme doit élaborer en plus de la réponse immunitaire spécifique humorale, une réponse cellulaire pour pallier l'inefficacité des anticorps dans la protection de l'individu.

Il est connu que la réponse à la médiation cellulaire ne donne pas lieu à la production d'anticorps, mais seulement à la génération des cellules lymphoïdes sensibilisées et spécifiques de l'antigène en cause.

Les lymphocytes T agissent par eux-mêmes et/ou par les cytokines, et on observe soit une réponse de type inflammatoire, soit une réponse cytotoxique.

Le pouvoir pathogène d'*Helicobacter* réside dans son aptitude à coloniser la muqueuse gastrique, à survivre dans le suc gastrique, et à s'y multiplier en dépit de la réponse immunitaire de l'hôte, et à générer des lésions parfois irréversibles (adénocarcinome, lymphome gastrique ou lymphomes de MALT "mucous associated lymphoid tissue").

[PARSONNET J: *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 1993, 22:89-104.

WORTHERSPOON AC , DOGLIONI C, DISS TC et al; Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342:575-7.

MOHANDAS, *Helicobacter pylori* and lymphoma. *N Eng J Med* 1994; 331:746-7].

lorsque celle-ci est insuffisante lors de l'injection : résistance à la phagocytose, induction d'apoptose...etc.

[PETERSON, P.K., VERHOEF, J., SCHMELING, D. & QUIE, P.G.: Kinetics of phagocytosis and bacterial killing by human polymorphonuclear leucocytes and monocytes. *J. Infec. Dis.* 136:502-509, 1977.

KIEHLBAUCH JA, ALBACH RA, BAUM I.L, CHANG KP. Phagocytosis of *Campylobacter jejuni* and its intracellular survival in mononuclear phagocytes. *Infect Immun* 1985; 48:446-51].

Constituants du complexe vaccinal objet de l'invention

Le complexe de l'invention comprend des molécules duales constituées par le couplage d'un bras fonctionnel d'acides aminés assurant la liaison à une cible, avec un bras génétique d'ARN correspondant à la description codée de la composition du bras fonctionnel.

A - Les ARN d'origine ribosomale utilisables peuvent être extraits des souches choisies dans le groupe suivant, cette liste n'étant pas limitative :

- *Helicobacter pylori* (ou *Campylobacter*), *hepaticus*, *coronari* ...
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Streptococcus* (*pneumoniae* et *pyogènes*)
- *Staphylococcus aureus*
- *Serratia marcescens*
- *Escherichia coli*
- *Salmonella typhimurium*
- *Corynebacterium* (*granulosum*, *parvum*, *acnes*)
- *Mycobacterium* (*tuberculosis*, *smegmatis*, *chelonei*)
- *Hemophilus influenzae*
- Pneumocoque type II
- *Rothia dento cariosus*
- *Bacterium coli*
- *Shigella dysenteriae*
- *Enterococcus*
- *Nocardia* (*astéroïdes*, *brasiliensis*, *rhodocrans*, *opaca*, *rubra*)
- Bacille de Calmette et Guérin.

ou d'un mélange de celles-ci.

Les poids moléculaires moyens de ces ARN se situent entre 5 104 et 108 Dalton.

De multiples procédés industriels existent pour la préparation de l'ARN. Nous citerons comme exemple le procédé d'extraction d'ARN décrit dans Infect. and Immunity, 1, 574-82, 1970 : les bactéries sont broyées puis soumises à une précipitation fractionnée, les protéines ribosomales sont solubilisées, l'ARN précipité est traité par Pronase et, enfin, purifié par chromatographie échangeuse d'ions.

Si l'ARN est obtenu par voie enzymatique, la purification finale peut être faite par chromatographie de tamisage moléculaire. Voir notamment à ce sujet :

- C. EHRESMAN (1972) - Biochimie, 54, 901

- H. KAGAWA (1972) - J. Biochem., (1972), 827

- M. SANTER (1973) - J. Bact., 116, 1304

- NOMURA (1974) - Ribosomes - Ed. Cold Spring Harbor Laboratory.

B - Les fractions membranaires de cellules bactériennes utilisables peuvent être extraites des souches suivantes, les listes données n'étant pas limitatives :

1 - pour les polysaccharides capsulaires

a. Helicobacter pylori et hepaticus

b. Klebsiella pneumoniae

c. Streptococcus pneumoniae

d. Hemophilus influenzae

e. Escherichia coli

a. Helicobacter pylori, hepaticus, et coronari

[HILLS BA, Gastric mucosal barrier: evidence for Helicobacter pylori

ingesting gastric surfactant and deriving protection from it. Gut, 1993 May; 34(5):588-93.

GENTA RM; ROBASON GO; GRAHAM DY. Simultaneous visualization of Helicobacter pylori and gastric morphology: a new stain. Human Pathology; 1994 Mar; 25(3):221-6.

MAJEWSKI, S.I., and C.S GOODWIN. 1988. Restriction endonuclease analysis of the genome of Campylobacter pylori with a rapid extraction method: evidence for considerable genomic variation. J. Infect. Dis. 157:465-471.

GEIS, G., LEYING, H., SUERBAUM, S., MAI, U. & OPFERKUCH, W.: Ultrastructure and chemical analysis of Campylobacter pylori flagella. J. Clin. Microbiol. 27:436-441, 1989].

b. Klebsiella pneumoniae

[- C. ERBING, L. KENNE, B. LINBERG, J. LONNGREN (1976) - Structural studies of the capsular polysaccharide of Klebsiella pneumoniae type I (Carbohydr. Res., 50 (1976) 115-20).

- W. NIMMICH (1968) - Zur Isolierung und qualitativen Bausteianalyse der K. Angigen von Klebsiellen (Med. Mikrobio. und Immunol., 154, 117, 131).

- C. RICHARD (1973) - Etude antigénique et biochimique de 500 souches de Klebsiella (Ann. Biol. Clin., 1973)].

c. Streptococcus pneumoniae :

[- F. KAUFFMANN et E. LUND (1954) (Int. Bull. Bact. Nomencl. 4, 125-28).

- FELTON et OTTINGER (J. of Bacteriology, 1942, 43, 94, 105)

- M. COLIN, M.D. MAC LEOD et coll. - Prevention of pneumococcal

pneumoniae by immunization with specific capsular polysaccharides (J. Exp. Med., 1945, 82, 445-65).

- A.R. DOCHEZ et O.T. AVERY - The elaboration of specific soluble substance by Pneumococcus during growth (1971) (J. Exp. Med. 26, 477-93).

- WEST PHAL et LUDERITZ (1952) (Z. Naturf. 7B, 148).

- C.P.J. GLAUDEMANS et H.P. TREFFERS - An improved preparation of the capsular polysaccharide from from Diplococcus pneumoniae (Carbohydr. Res. 1967, 4, 181-84)].

10 d. Hemophilus influenzae (polysaccharide capsulaire de type poly-ribose-phosphate)

[- P. ANDERSON et coll. (1972) - Immunization of humans with poly-ribosephosphate, the capsular antigen of Hemophilus influenzae type B (J. of Clin. Invest., vol. 51, 1972, 39-44).

15 - P. ANDERSON et coll. (1977) - Isolation of the capsular polysaccharide from supernatant of Hemophilus influenzae type B (Infect. and Immun., 1977, 15 (2), 472-77)].

e. Escherichia coli (polysaccharides capsulaires)

20 [- LUDERITZ et coll. (1977) - Somatic and capsular antigens of gram-negative bacteria (Compr. Biochem. 26 A, 105-228).

- BOYER H.W., and D. ROULLAND-DISSOIX. (1969) - A complementation analysis of the restriction and modification of DNA in *Escherichia coli* J. Mol. Biol. (41:459-472).

- CASADABAN, M., and S. N. COHEN (1980) - Analysis of gene control signals by DNA fusion and cloning in *E. coli* J. Mol. Biol. (138:179-207).

25 - LUGTENBERG, B., J. Meijers, R. Peters, P. van der Hock, and L. van Alphen (1975) - Electrophoretic resolution of the "major outer membrane

protein" of *Escherichia coli* K12 into four bands. (FEBS Lett. 58:254-258)].

2 - Pour les lipopolysaccharides membranaires (LPS)- *Corynebacterium*
(*avidum*, *bovis*, *diphtheriae*, *enzymicum*, *equi*, *fascians*, *flaccum*, *faciens*,
05 *flavidum*, *fusiforme*, *granulosum*, *helvolum*, *hypertrophicans*, *insidiosum*,
liquefaciens, *parvum*, *paurometabolum*, *pyogènes*, *tumescens*, *xerosis*)

- et les gram-moins :

- *Helicobacter pylori*, *hepaticus*, *coronari*

- *Klebsiella* (*pneumoniae* et *rhinoscleromatis*)

- *Salmonella typhimurium*

10 - *Serratia* (*marcescens*, *corralina*, *indica*, *plymuthica*, *kiluea*)

- *Neisseria meningitidis*

- *Escherichia coli*

[GOODWIN C. S. "Helicobacter Pylori : 10th anniversary of its culture
in April 1982". (Gut 1993 ; 34 : 293-4).

15 - C. ERBIN et coll. (1977) - Structural studies on the *Klebsiella* LPS
(Carbohydr. Res., 56, 377-81).

- C.B. CASTOR et coll. (1971) - Characteristics of a highly purified py-
rogenic LPS of *Klebsiella pneumoniae* (J. of Pharm. Sci., 60, (10), 1578-
80).

20 - K. FUKUSHI (1964) - Extraction and purification of endotoxin from
Enterobacteriaceae: a comparison of selected methods and sources (J. of
Bacteriol. 87, (2), 391-400).

- G.A. LIMJUCO - Studies on the chemical composition of LPS from
Neisseria meningitidis group B (J. of Gen. Microbiol. 1978, 104, 187-91).

25 - G.A. ADAMS (1967) - Extraction of LPS from gram-negative bacteria
with DMSO (Canad. J. Biochem., 45, 422-26).

- K.G. JOHNSON (1976) - Improved techniques for the preparation of

bacterial LPS (Canad. J. Microbiol. (22), 29-34).

- Y.B. KIM et coll. (1967) - Biologically active endotoxins from *Salmonella mutans* (J. of Bacteriol., 94, (5), 1320-26)].

3 - Pour les protéines membranaires

- 05 - *Helicobacter Pylori*
 - *Escherichia coli*
 - *Serratia marcescens*
 - *Streptococcus pyogènes*
 - *Salmonella typhimurium*.

10 *Helicobacter Pylori, Hepaticus, Coronari ...*

- GOBERT (B.), LABIGNE (A.), de KORWIN (J.D.), CONROY (M.C.), BENE (M.C.), FAURE (G.C.) - Polymerase chain reaction for *Helicobacter pylori*. (Rev. Esp. Enf Digest. 1980, 78 (suppl 1), 4.

- 15 - TOWBIN, H., T. STAEGELIN, and J. GORDON. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76:4350-4354.

Escherichia coli

- S.F. STIRM et coll. (1967) - Episome. carried surface antigen K 88 of *Escherichia coli* (J. of Bacteriol., 93, (2), 731-39).
20 - S.J. BETZ et coll. (1977) - Chemical and biological properties of a protein rich fraction of bacterial LPS (J. of Immunol., 119, (4), 1475-81).

Serratia marcescens

- W. WOBER (1971) - Studies on the protein moiety of endotoxin from gram-negative bacteria. characterisation of the protein-moiety isolated
25 by acetic acid hydrolysis of endotoxin of *Serratia marcescens*.

Streptococcus pyogènes

- M.K. WITTNER (1977) - Homologous and heterologous protection of

mice with group-A Streptococcal M protein vaccine (Infect. and Immun., 1977, 15, (1), 104-8).

Salmonella thyphimurium

05 - N. KUUSI et coll. (1979) - Immunization with major outer membrane protein in experimental salmonellosis of mice (Infect. and Immun., 1979, 25, (3), 857-62).

- C. BARBER et coll. (1972) - The protective role of proteins from *Salmonella thyphimurium* in infection of mice with their natural pathogen (Rev. Immunol., 36, 77-81).

10 - G. DELORD (1979) - Etude d'un antigène vaccinant contenu dans le surnageant de culture de *Salmonella thyphimurium*, souche M-206, thèse de médecine de Lyon n° 428, 1979.

- G.W. GOODMAN (1979) - Characterization of the chemical and physical properties of a novel B-lymphocyte activator endotoxin protein
15 (Infect. and Immun., 1979, 24 (3), 685-96).

4 - Pour les acides teichoïques et lipoteichoïques

Streptocoques, staphylocoques, et lactobacilles (la surface des bactéries gram-positives est faite d'acide teichoïque, qui est un polymère du glycérol, lié par des ponts phosphodiester).

20 Les articles suivants décrivent les procédés d'obtention :

- M.M. BURGER (1966) - Teichoic acids: antigenic determinants, chain separation, and their location in the cell wall (Microbiology 56, 910-17).

- K.W. KNOX (1973) - Immunological properties of teichoic acids
25 (Bacteriol. Reviews, 37, 21, 215-57).

- G.A. MILLER (1976) - Effects of streptococcal lipoteichoic acid on host response in mice (Infect. and Immun., 1976, 13, (5), 1408-17).

- A.J. WICKEN et coll. (1975) - Lipoteichoic acids: a new class of bacterial antigens (Science, 187, 1161-67).

Différents dosages possibles

A.R.N.

- 05 * FISKE et SUBBAROW - Dosage du phosphore. Chromatographie HPLC sur colonne échangeuse d'ions pour le contrôle qualitatif (J. Biol. Chem. (1926), 66, 375).

Protéines

- * LOWRY (J. Biol. Chem. (1951), 193, 265-75).

10 Hexoses

- * T.A. SCOTT - Dosage colorimétr. à l'anthrone (Anal. Chem. (1953), 25, 1956-61).

Hexosamines

- * L.A. ELSON (Biochem. J (1953), 27, 1824-28).

15 Lipopolysaccharides

- * J. JANDA et E. WORK (Febs Letters, 1971, 16 (4), 343-45).

C - Les autres facteurs adjuvants de l'immunité, en plus des fractions membranaires, sont

- du collagène type III
- 20 - du chlorure de sodium

Le collagène de type III utilisé est caractérisé par :

a - des séquences d'acides aminés voisines de la séquence suivante
(les concentrations sont exprimées en g/kg) :

- | | | | |
|----|--------------------|----|-------|
| | - acide aspartique | AA | 51.5 |
| 25 | - hydroxyproline | HP | 107.0 |
| | - thréonine | TH | 16.1 |
| | - sérine | SE | 27.8 |

	- acide glutamique AG	95,9
	- proline PR	124,0
	- glycine GL	149,0
	- alanine AL	87,9
05	- valine VA	23,3
	- méthionine ME	7,5
	- isoleucine IL	14,4
	- leucine LE	27,8
	- tyrosine TY	6,7
10	- phénylalanine PA	14,4
	- lysine LY	28,6
	- histidine HI	5,5
	- arginine AR	73,0
	<u>b - l'analyse-type</u> suivante :	
15	- couleur	blanc jaunâtre
	- densité apparente	250 g/l
	- humidité	6 %
	- pH d'une solution à 10 %	6,9
	- viscosité Engler à 40°C	2,5
20	(solution à 17,75 %)	
	- taux de matières grasses	0,9 %
	- taux de cendres	2,2 %
	- taux de Fe + Cu + Ca	462 mg/kg
	- métaux lourds	non décelables par spectrographie d'émission
25	d'arc	
	- analyse élémentaire C	46,80 %
		H 7,10 %

N 14,96 %

La composition du complexe vaccinal objet de l'invention, associant des ARN ou des fragments d'ARN ribosomiaux, des fractions membranaires (par exemple protéoglycanes de *Klebsiella pneumoniae*) et du collagène de type III, complété par du chlorure de sodium et un anti-inflammatoire, permet, par administration de faibles doses n'entraînant aucune toxicité, d'obtenir un haut niveau de protection et de guérison.

La présentation préférée est la forme injectable de la composition ci-dessus présentée, mais il est possible d'utiliser d'autres présentations et/ou d'autres supports ou additifs compatibles avec une utilisation médicale.

Mécanisme d'action du complexe vaccinal

Ce complexe thérapeutique (vaccinal) peut être assimilé à un vaccin spécifique (par "système inerte" qui a pour but d'augmenter l'immunogénicité d'un vaccin recombinant sous-unité et des vaccins constitués des peptides), et d'un vaccin non spécifique avec les caractéristiques d'une lymphokine, qui, se fixant aux macrophages, joue un rôle essentiel dans la réponse immune vis-à-vis d'*Helicobacter* [KAZI, J.I., SINNIAN, R., JAFFRAY, N.A., ALAM, S.M., ZAMAN, V., ZUBERI, S.J. & KAZI, A.M.: Cellular and humoral immune responses in *Campylobacter pylori*-associated chronic gastritis. *J. Pathol.* 159: 231-237, 1989].

Depuis 1974-75 (A.S. et G.P. YOUMANS), il a été constaté que l'effet d'inhibition de la réponse immune à l'ARN était réalisée par différents inhibiteurs.

YOUMANS avait travaillé sur une seule souche bactérienne (*Mycobacterium tuberculosis*), dont le "parasitisme" est uniquement intra-

cellulaire.

VENNEMAN et coll. pensent, dès 1972, que le véritable antigène pourrait être associé à l'ARN, dont le rôle serait celui d'un adjuvant. Ils vaccinent des souris avec de l'ARN ribosomal, extrait par le phénol à 65°C de ribosomes d'une souche de *Salmonella typhimurium*. Trente jours après cette vaccination, il s'avère que les animaux sont mieux protégés que par vaccin souche vivante (atténuée).

Il est surtout constaté que le niveau de protection est fonction de la quantité d'ARN injectée.

Par exemple : l'ARN ribosomal extrait de *Streptococcus pneumoniae* induit une protection de nature humorale et l'ARN ribosomal extrait de *Klebsiella pneumoniae* induit une protection de nature cellulaire.

[TRIEU-CUOT, P., G. GERBAUD, T. LAMBERT, and P. COURVALIN (1985) - In vivo transfer of genetic information between gram-positive and gram-negative bacteria. (EMBO J. 4:3583-3587)].

Ce mélange, injecté in vivo sur souris et cobayes, exerce une action sur les macrophages alvéolaires.

Cet effet "transitoire" se retrouve en dosant la phosphatase acide des plages d'hémolyse directe au contact des cellules spléniques de souris.

Le traitement par notre complexe thérapeutique et vaccinal est, quant à lui, suivi d'un effet immunostimulant cellulaire et humoral, avec une action spécifique et non spécifique, significative, sur les *Helicobacter pylori*. C'est l'organisme du patient lui-même qui est sollicité pour "rejeter les cellules infectées". On obtient une guérison par l'action des PMNs (Polymorphonuclear leukocytes) et des monocytes simultanément sollicités.

[ANDERSEN LP; NIELSEN H. Survival and ultrastructural changes of

Helicobacter pylori after phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *APMIS*; 1993 Jan; 101(1); 61-72]

[STEIGBIGEL, R. T., LAMBERT, L. H. & REMINGTON, J.S.: Phagocytic and bactericidal properties of normal human monocytes. *J. Clin. Invest.* 53: 131-142, 1974]

[YAM, L.T., Li, C. Y. & CROSBY, W.H.: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am. J. Clin. Pathol.* 55: 283-290, 1971].

Ce mécanisme thérapeutique permet donc de produire un clonage naturel grâce aux ARN

10 (ribosomaux bactériens non spécifiques) opsonisés par l'adjuvant mis au point (combinaison de protéoglycanes membranaires, de collagène de type III, de chlorure de sodium).

Ce clonage induit une vaccination contre les idiotypes des anticorps, ainsi qu'une production d'anticorps contre le site de liaison des bactéries.

15 Pour diminuer ou inhiber la réaction inflammatoire, il est nécessaire d'utiliser, lors des traitements par le complexe vaccinal, des corticoïdes (type Betaméthazone, par exemple) sous forme de phosphate disodique, à la dose de 20 à 60 mg, par voie I.V. ou I.M.

Cette action s'accompagne également d'une production d'interféron
20 endogène, ainsi que d'une activation des cellules N.K.

Le but de notre complexe vaccinal immuno-modulateur est donc d'induire une réponse immunitaire locale et générale ayant pour effet d'empêcher ou au moins de réduire (jusqu'à un seuil d'auto-défense possible) la prolifération d'un agent infectieux introduit dans l'organisme.

25 - PRUUL, H., LEE, P. C., GOODWIN, C. S. & MACDONALD, P. J. - Interaction of *Campylobacter pyloridis* with human immune defence mechanisms. (*J. Med. Microbiol.* 23: 233-238, 1987).

- RATHBONE, B. J., WYATT, J. I., WORSLEY, B. W., SHIRES, S. E., TREJDOSIEWICZ, L. K., HEATLEY, R. V. & LOSOWSKY, M; S. - Systemic and local antibody response to gastric *Campylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. (Gut 27: 642-647, 1986).

- 05 - STACEY, A. R., HAWTIN, P. R. & NEWELL, D. G. - Local immune responses to *Helicobacter pylori* infections. In : Malgertheimer, P. & Ditschuneit, H. (Eds.) : *Helicobacter pylori*. Gastritis and Peptic Ulcer. (Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1990, pp. 162-166).

10 Notre originalité thérapeutique consiste, entre autres, à modérer ou supprimer l'existence de "cellules suppressives" exerçant une action pro-infectieuse, à provoquer une réaction anti-ulcéreuse par réponse cellulaire et/ou humorale de défense. C'est la réponse thérapeutique au problème pressenti dès 1993 par Kist et Coll.

- 15 [KIST M; SPIEGELHALDER C; MORIKI T; SCHAEFER HE - Interaction of *Helicobacter pylori* (strain 151) and *Campylobacter coli* with human peripheral polymorphonuclear granulocytes]
- et à prévenir les récides infectieuses :

- 20 - BORODY T, ANDREWS P, MANCUSO N, JANKIEWICZ E, BRANDL S - *Helicobacter pylori* reinfection 4 years post-eradication; (Lancet 1992, 339:1295).

- BELL GD, POWELL KU, BURRIDGE SM, HARRISON G, RAMEH B, WEIL J, et al - Reinfection or recrudescence after apparently successful eradication of *Helicobacter pylori* infection : Implications for treatment of patients with duodenal ulcer disease. (Q J Med 1993, 86:375-382).

- 25 En conclusion, notre complexe thérapeutique agit par évolution dirigée produisant des molécules d'ARN, lesquelles, bloquent l'infection par l'*Helicobacter pylori*, et augmentent l'immunodéfense.

[SUERBAUM, S., C. JOSEPHANS, and A. LABIGNE (1993) - Cloning and genetic characterization of the *Helicobacter pylori* and *Helicobacter mustelae* flaB flagellin genes and construction of *H. pylori* flaA- and flaB-negative mutants by electroporation-mediated allelic exchange. (J. Bacteriol. 175:3278-3288).

- HAAS, R., T. F. MEYER, and J. P. VAN PUTTEN (1993) - Aflagellated mutants of *Helicobacter pylori* generated by genetic transformation of naturally competent strains using transposon shuttle mutagenesis. (Mol. Microbiol. 8:753-760)

- CHEN M, LEE A, HAZELL S, HU P, LI Y - Protective immunisation against *Helicobacter* the need for stimulation of common mucosal immune system (abstract). (Gastroenterology 1993, 104 (suppl): A681)].

Il a par ailleurs été constaté lors des différents essais cliniques auxquels il a été procédé, que le complexe de l'invention pouvait suppléer avec succès aux traitements conventionnels, par triple thérapie notamment, dans les cas de résistances bactériennes notoires.

Techniques d'administration du complexe vaccinal

Le complexe vaccinal peut être administré par voie orale, ou par voie parentérale :

- * soit par injection intraveineuse directe
- * ou par perfusion lente
- * ou par injection sous-cutanée.
- * ou par voie transdermique (par 24 h.)

Ces diverses techniques ont été expérimentées avec succès.

Les dosages journaliers et leur fréquence dépendent beaucoup de l'état du patient. Un surdosage ne présente aucun risque, compte tenu de la non toxicité du complexe.

Par voie intraveineuse, on peut utiliser des séquences d'une semaine par mois, chaque jour de la semaine de traitement comportant une perfusion lente de 500 ml d'une solution renfermant :

- 05 - 0.9 % de chlorure de sodium
- 40 µg de fractions saccharidiques membranaires (protéoglycanes de *Klebsiella pneumoniae*)
- 30 µg d'ARN (ribosomal) de :
- | | |
|--|------|
| * <i>Helicobacter pylori</i> | 7µg |
| * <i>Diplococcus pneumoniae</i> | 7µg |
| * <i>Streptococcus pyogenes</i> (A 12) | 7µg |
| * <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 7 µg |
| * <i>Hemophilus influenzae</i> | 2 µg |
- 10 µg de collagène type III décrit ci-dessus
- 8 mg de phosphate disodique de Bétaméthazone (soit 2 ml de soluté injectable)
- 15

A ce traitement par perfusion I.V. lente, peut succéder un traitement par injections sous-cutanées sur les patients pouvant être suivis de façon ambulatoire, chaque injection contenant :

- 40 µg de fractions saccharidiques membranaires (protéoglycanes de
- 20 *Klebsiella pneumoniae*)
- 30 µg d'ARN (ribosomal) de :
- * *Helicobacter pylori* 7µg
- * *Diplococcus pneumoniae* 7µg
- * *Streptococcus pyogène* (A 12) 7µg
- 25 * *Klebsiella pneumoniae* 7 µg
- * *Hemophilus influenzae* 2 µg
- 10 µg de collagène type III décrit ci-dessus

- 0,5 ml de chlorure de sodium à 0,9 %

- 4 mg de phosphate disodique de Bétaméthazone (soit 1 ml de soluté injectable).

Ce traitement peut être poursuivi quelques semaines.

05 Par voie orale :

• par comprimés,

2 comprimés par jour, en une seule prise le matin à jeun, chaque comprimé renfermant : - 400 µg de fractions saccharidiques membranaires (protéoglycanes de *Klebsiella pneumoniae*)

10 - 300 µg d'ARN (Ribosomal) de :

* *Helicobacter pylori* 70 µg

* *Diplococcus pneumoniae* 70 µg

* *Streptococcus pyogènes* (A12) 70 µg

* *Klebsiella pneumoniae* 70 µg

15 * *Hemophilus influenzae* 20 µg

- 100 mg de Collagène type III décrit ci-dessus

- 2 mg de phosphate disodique de Betamethazone

Ce traitement peut être octroyé à raison de 2 comprimés par jour pendant un mois, suivi de périodes de rappel de deux comprimés par jour, une se-

20 maine par mois pendant 3 mois.

Par voie transdermique

Système thérapeutique transdermique adhésif composé d'un réservoir et d'une membrane perméable assurant le passage continu des principes
25 actifs à travers la peau et dans la circulation sanguine à vitesse constante.

Le dispositif doit être collé sur une surface cutanée saine, sèche et peu

pileuse (paroi latérale de l'abdomen ou du thorax par exemple).

Il comporte :

- Polymère adhésif
- Support de l'adhésif : polyéthylène
- 05 - Filtre protecteur polyester siliconé

Son contenu est le contenu d'un comprimé, et sa posologie est identique à la voie orale (à raison d'un "patch" pour 2 comprimés quotidiens).

Les exemples suivants, non limitatifs, sont communiqués pour illustrer les résultats concrets de notre complexe vaccinal thérapeutique.

10 Exemple 1

M. Robert G., 64 ans, est hospitalisé à la suite d'épigastalgies, de pyrosis et de douleurs abdominales associées à un trouble du transit avec alternance diarrhée - constipation. L'endoscopie digestive retrouve une pathologie de reflux gastro-oesophagien par béance du cardia entraînant une
15 oesophagite et un ulcère peptique du bas oesophage.

Des biopsies sont pratiquées de même qu'un test rapide à l'uréase. Celui-ci, de même que l'anatomopathologie et la culture, confirment la présence d'*Helicobacter pylori*.

Le traitement conventionnel (antisécrétoire et deux antibiotiques) est
20 prescrit. La trithérapie n'entraîne pas de guérison clinique.

Six semaines après la fin du traitement, le contrôle d'éradication par test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C fait conclure en la prolifération des bactéries par sa positivité.

Le traitement par le complexe vaccinal objet de l'invention est alors
25 pratiqué sous forme d'injections sous-cutanées.

Un mois après, on constate la guérison clinique et le test respiratoire à l'urée marquée au carbone-13 est négatif.

Six mois après, un nouveau contrôle par test respiratoire à l'urée marquée ^{13}C et l'endoscopie de contrôle montrent une guérison acquise.

Depuis un an, la guérison est définitive.

Exemple 2

05 M. Serge Y., 48 ans, présente une gastrite antrale de type B. Traitement par complexe immunomodulateur (les seuls traitements antérieurs étaient des pansements gastriques) sous forme IV. La guérison clinique est acquise quinze jours après la séquence thérapeutique. Les contrôles (test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C) sont négatifs depuis
10 un an.

Exemple 3

M. Pierre K., présente un ulcère duodénal confirmé à l'endoscopie (+Biopsie, test à l'uréase, tests ELISA).

Le traitement par voie orale est alors instauré. Trois semaines après,
15 la guérison clinique est obtenue.

Six semaines après, le contrôle par test respiratoire à l'urée marquée ^{13}C confirme l'éradication.

Six mois après, aucune récurrence n'est enregistrée, et le test Elisa montre un taux d'anticorps non significatif (< 50 %).

20 Exemple 4

Mme Sarah L. présente un ulcère duodénal associé à une gastrite de type B.

On relève la présence de cancer gastrique dans sa fratrie. Un bilan complet pratiqué montre la positivité de tous les tests par méthode invasive : culture, histologie, amplification du génome viral (PCR), test à l'uréase.
25

Le traitement par voie intraveineuse sur une semaine puis par rappels

sous-cutanés sur six mois est alors instauré.

Etant donné le haut risque familial, une endoscopie avec biopsie est pratiquée dès le troisième mois : PCR, cytologie, culture, CLO test, sont négatifs.

05 Au sixième mois, un test respiratoire (^{13}C) confirme la guérison clinique.

10

15

20

25

REVENDICATIONS

1. Complexe immunomodulateur thérapeutique spécifique. **caractérisé en ce qu'il** comprend des molécules duales constituées par le couplage d'un bras fonctionnel d'acides aminés assurant la liaison à une cible, avec
05 un bras génétique d'ARN, des fractions membranaires bactériennes - glycopeptides et/ou lipopolysaccharides, correspondant à la description codée de la composition du bras fonctionnel.

2. Complexe immunomodulateur selon la Revendication 1. **caractérisé en ce que** les acides ribonucléïques (ARN) sont d'origine ribosomale.

10 3. Complexe immunomodulateur selon la Revendication 2. **caractérisé en ce que** les acides ribonucléïques d'origine ribosomale sont extraits des souches choisies dans le groupe suivant : Helicobacter pylori, hepatitis, coronari, Campylobacter ou d'un mélange de celles-ci .

4. Complexe immunomodulateur selon la Revendication 1. **caractérisé en ce que** les acides aminés sont des acides aminés de collagène.
15

5. Complexe immunomodulateur selon la Revendication 4. **caractérisé en ce que** les acides aminés de collagène sont choisis dans le groupe suivant : acide aspartique, hydroxyproline, thréonine, sérine, acide glutamique, proline, glycine, alanine, valine, méthionine, isoleucine, leucine,
20 tyrosine, phénylalanine, lysine, histidine, arginine, ou d'un mélange de ceux-ci.

6. Complexe immunomodulateur conforme à l'une des Revendications 1 à 5 pour son utilisation dans le traitement des affections par bactéries Helicobacter, par la production d'anticorps et la production d'interféron
25 endogène.

7. Complexe immunomodulateur conforme à l'une des Revendications 1 à 5 pour son utilisation comme vaccin anti-idiotypique contre les idio-

types des anticorps anti-bactériens permettant d'éviter notamment les récidives de la pathologie initiale du tractus digestif.

05 8. Complexe immunomodulateur conforme à l'une des Revendications 1 à 5 pour son utilisation contre les résistances bactériennes aux traitements conventionnels par antibiotiques ou autres.

10 9. Complexe immunomodulateur et vaccinal spécifique anti-Helicobacter selon l'une des Revendications précédentes, **caractérisé en ce qu'il** est présenté sous un conditionnement permettant l'administration simultanée d'anti-inflammatoires majeurs du type corticoïdes, d'antibiotiques, d'antisécrétoires, (inhibiteurs de la pompe à protons, type Oméprazole ou anti H2...) ou autres produits à effets bactériostatiques, bactéricides ou bactériolytiques, pour éradiquer Helicobacter générant une pathogénèse par facteurs liés à la bactérie (production de différentes cyto-

15 toxines, de médiateurs de l'inflammation : Interleukine I, facteur alpha de nécrose tumorale (Tumor necrosis factor alpha)), ou par facteurs liés à l'hôte.

20 10. Complexe immunomodulateur selon la Revendication précédente, **caractérisé par** un conditionnement sous une forme telle qu'il peut être administré par différentes voies : perfusions, injections intraveineuses, injections sous-cutanées, dispositifs transdermiques, ou per os.

place
w part 24

CLAIMS

1. Specific therapeutic immunomodulatory complex,
characterized in that it comprises dual molecules consti-
tuted by the coupling of a functional amino acid arm,
5 ensuring binding to a target, with a genetic RNA arm,
bacterial membrane fractions - glycopeptides and/or
lipopolysaccharides corresponding to the coded
description of the composition of the functional arm.
2. Immunomodulatory complex according to Claim 1,
10 **characterized in that** the ribonucleic acids (RNA) are of
ribosomal origin.
3. Immunomodulatory complex according to Claim 2,
characterized in that the ribonucleic acids of ribosomal
origin are extracted from strains chosen from the follow-
15 ing group: *Helicobacter pylori*, *hepaticus*, *coronari*,
Campylobacter or from a mixture thereof.
4. Immunomodulatory complex according to Claim 1,
characterized in that the amino acids are amino acids
from collagen.
- 20 5. Immunomodulatory complex according to Claim 4,
characterized in that the amino acids from collagen are
chosen from the following group: aspartic acid,
hydroxyproline, threonine, serine, glutamic acid,
proline, glycine, alanine, valine, methionine,
25 isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, lysine,
histidine, arginine, or a mixture thereof.
6. Immunomodulatory complex according to one of
Claims 1 to 5, for its use in the treatment of diseases
caused by *Helicobacter* bacteria, by the production of

THIS PAGE BLANK (USPTO)

antibodies and the production of endogenous interferon.

7. Immunomodulatory complex according to one of Claims 1 to 5, for its use as an anti-idiotypic vaccine against the idiotypes of anti-bacterial antibodies which
5 make it possible to avoid, in particular, recidivations of the initial digestive tract pathology.

8. Immunomodulatory complex according to one of Claims 1 to 5, for its use against bacterial resistance to conventional antibiotic treatments and the like.

10 9. Anti-Helicobacter-specific immunomodulatory and vaccine complex according to one of the preceding claims, **characterized in that it** is presented in a packaging allowing the simultaneous administration of major anti-inflammatory agents of the corticoid type, of anti-
15 biotics, of antisecretory agents, (proton pump inhibitors, of the type including Omeprazole or anti-H2, and the like) or other products with bacteriostatic, bactericidal or bacteriolytic effects, for eradicating Helicobacter generating pathogeneses by factors linked to
20 the bacterium (production of various cytotoxins, of inflammation mediators: Interleukin I, tumour necrosis factor alpha), or by factors linked to the host.

10. Immunomodulatory complex according to the preceding claim, **characterized by** a packaging in the form such
25 that it can be administered by various routes: infusions, intravenous injections, subcutaneous injections, transdermal devices, or per os.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. nal Application No
PCT/FR 97/00334

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K35/74 A61K39/106 //(A61K39/106,31:57,38:39,39:108),
(A61K35/74,38:39)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 22462 A (TOROSSIAN) 13 October 1994 cited in the application see the whole document ---	1-10
X	EP 0 035 429 A (PIERRE FABRE) 9 September 1981 see the whole document ---	1-10
A	CLINICAL IMMUNOTHERAPEUTICS, vol. 4, no. 2, 1995, pages 138-146, XP000609056 FAURE G. ET AL.: "Use of Bacterial Ribosomal Immunostimulators in Respiratory Tract Infections" see the whole document -----	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 June 1997

Date of mailing of the international search report

25.06.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Moreau, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/00334

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9422462 A	13-10-94	FR 2703252 A	07-10-94
		AU 6110994 A	24-10-94
		CA 2136870 A	13-10-94
		CN 1106980 A	16-08-95
		EP 0644773 A	29-03-95
		JP 8500846 T	30-01-96

EP 35429 A	09-09-81	FR 2475900 A	21-08-81
		AU 543201 B	04-04-85
		AU 6750181 A	27-08-81
		CA 1181691 A	29-01-85
		JP 56131523 A	15-10-81
		US 4460575 A	17-07-84

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem Internationale No
PCT/FR 97/00334

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K35/74 A61K39/106 //(A61K39/106,31:57,38:39,39:108),
(A61K35/74,38:39)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 94 22462 A (TOROSSIAN) 13 Octobre 1994 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-10
X	EP 0 035 429 A (PIERRE FABRE) 9 Septembre 1981 voir le document en entier ---	1-10
A	CLINICAL IMMUNOTHERAPEUTICS, vol. 4, no. 2, 1995, pages 138-146, XP000609056 FAURE G. ET AL.: "Use of Bacterial Ribosomal Immunostimulators in Respiratory Tract Infections" voir le document en entier -----	1-10

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

13 Juin 1997

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25.06.97

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Moreau, J

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den . . . Internationale No

PCT/FR 97/00334

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9422462 A	13-10-94	FR 2703252 A	07-10-94
		AU 6110994 A	24-10-94
		CA 2136870 A	13-10-94
		CN 1106980 A	16-08-95
		EP 0644773 A	29-03-95
		JP 8500846 T	30-01-96

EP 35429 A	09-09-81	FR 2475900 A	21-08-81
		AU 543201 B	04-04-85
		AU 6750181 A	27-08-81
		CA 1181691 A	29-01-85
		JP 56131523 A	15-10-81
		US 4460575 A	17-07-84
